Aus dem Tropengenesungsheim der Universität Tübingen
Vorstand: Professor Dr. O. Fischer

Die negative Chopraprobe

Eine systematische Zusammenstellung der Niederschlagsformen, die bei der negativen Chopraprobe auftreten, mit praktischer Auswertung

*

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe
einer
hohen Medizinischen Fakultät
der
Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen
vorgelegt von

ALFRED STÜRZENHOFECKER
aus Finschhafen / Neuguinea

1937

Druck von C. Brügel & Sohn, Ansbach

Dekan: Prof. Dr. Usadel

Berichterstatter: Prof. Dr. O. Fischer

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Als ein charakteristisches Merkmal vieler Infektionskrankheiten ist bekannt, daß nach einer gewissen Zeit eine Milzschwellung auftritt, die ganz verschiedene Grade annehmen kann. In diagnostisch unklaren Fällen kann das Auftreten einer Milzschwellung von Bedeutung sein für die Beurteilung des Krankheitsbildes. Aber auch bei gewissen Blutkrankheiten finden wir eine Vergrößerung der Milz. In tropischen Gegenden kommen Milztumoren von außerordentlichem Ausmaß vor. So finden wir sie beispielsweise bei chronischer unbehandelter Malaria, sowie bei der tropischen Splenomegalie, der „Kala Azar". Die Diagnose einer Malaria läßt sich verhältnismäßig leicht durch den Nachweis der Erreger im Blut feststellen. Bei der Kala Azar steht uns dieses Hilfsmittel nicht zur Verfügung. Wohl können wir die Leishman-Donovanschen Körperchen, die Erreger der tropischen Splenomegalie, durch die Milzpunktion außerordentlich sicher nachweisen. Leider birgt aber die Milzpunktion, vor allem in ungeübten Händen, allerlei Gefahren, so daß es wünschenswert erscheint, eine einfache und vor allem ungefährlichere Methode zur Diagnose der Krankheit zu finden.

Es sind auch in den letzten Jahren mehrere solcher Methoden angegeben worden:

So hat Makkas bereits im Jahre 1911 eine serologische Methode nach Art der Wassermannschen Reaktion angegeben. Er verwendete als Antigen einen wässerigen Extrakt aus einem Stück Milz eines K.A.-Kranken. Leider fiel die Reaktion auch bei Lues und Malaria positiv aus und bedeutete somit keinen Fortschritt.

1922 entdeckte Napier, daß das Serum eines K.A.-Kranken, mit Formalinlösung versetzt, eine leichte Trübung gibt, die nach einigen Stunden gelatiniert und sich schließlich braun verfärbt. Diese Reaktion soll nach seinen Angaben recht spezifisch sein für K.A. und bedeutet somit ein ganz brauchbares diagnostisches Hilfsmittel.

1923 fanden Brachmachari und Sen bei photometrischen Prüfungen des Serums auf seinen Euglobulingehalt, daß dieser bei K.A. auf das 7fache vermehrt ist (s. Lloyd a. Paul — — Ind. Med. Res. 1928. Vol. 16). Diese Kontrolle, täglich ausgeführt, ermöglicht bei Behandlung der Krankheit mit Antimonpräparaten eine genaue Beobachtung und Beurteilung des Heilungsverlaufes, indem der Euglobulingehalt in einer typischen Kurve absinkt, während der Albumin- und Pseudoglobulingehalt in einer ebenso typischen Kurve ansteigt.

1927 stieß Chopra durch Zufall auf eine Reaktion, die besondere Bedeutung gewonnen hat. Er stellte nämlich fest, daß das Serum eines K.A.-Kranken mit verdünnten Antimonsalzlösungen, die ja bei der Krankheit therapeutische

Verwendung finden, einen Niederschlag gibt. Diese Reaktion soll, nach Angabe verschiedener Autoren, besonders charakteristisch sein für Leishmaniosen. Da die Ausführung recht einfach ist, wäre sie eine bedeutende Bereicherung der diagnostischen Hilfsmittel bei der Feststellung einer K.A. Mit dieser Reaktion, die nach ihrem Entdecker den Namen

„Chopraprobe"

erhalten hat, befaßt sich die vorliegende Abhandlung.

Die Methode ist kurz folgende:

Man gibt Antimonsalzlösungen von verschiedenen Konzentrationen in eine Reihe aufgestellter Reagenzgläser. Dazu läßt man 0,25 ccm (3 Tr.) des zu untersuchenden Serums fließen. Bei einer positiven Reaktion tritt nun an der Berührungsstelle des Serums mit der Salzlösung ein trüber Ring auf. Beim Umschütteln wird sofort der ganze Inhalt des Röhrchens trüb. Es bildet sich alsbald ein flockiger Niederschlag, der sich im Lauf von Stunden absetzt.

Fällt die Reaktion aber irgendwie anders aus, so haben wir eine negative Chopraprobe vor uns.

Es gilt nun zunächst die Frage zu klären, ob alle handelsüblichen Antimonpräparate, die als Reagenzien in Frage kommen, sichere Resultate liefern. Wir müssen hierzu zwei Fragen beantworten:

1. Gibt das betreffende Salz eine klare Lösung, in der auch nach längerem Stehen keine Trübung auftritt?

2. Spricht die betreffende Salzlösung auch ganz spezifisch auf K.A. an?

ad 1: Zur Untersuchung der ersten Frage, der Tauglichkeit der verschiedenen Antimonsalze, haben wir Lösungen angesetzt und über längere Zeit beobachtet. Wir verglichen Lösungen von Stibenyl, Stibosan und Neostibosan, und zwar in Konzentrationen von 4%, 2%, 1%, ½% und ¼%. Dies sind die Konzentrationen, die auch bei der Chopraprobe angewendet werden. Dabei zeigte sich, daß nicht alle Antimonsalzlösungen gleichwertig sind in ihrer Anwendbarkeit als Reagenzien. Neostibosan ist entschieden das brauchbarste, da es sich, frisch angesetzt, leicht löst, die Lösung völlig klar ist und bleibt und sich auch am wenigsten verfärbt. Daraus ergibt sich, daß das Ablesen einer positiven Reaktion — sofortiges Auftreten einer starken Trübung und Bildung eines flockigen Niederschlages — am sichersten gewährleistet ist bei Verwendung von Neostibosan. Bei den anderen Salzen ist man nie sicher, ob eine auftretende Trübung oder ein Niederschlag nicht etwa auf eine Unzulänglichkeit des Salzes zurückzuführen ist. Es muß also von einer einwandfreien Chopraprobe zunächst gefordert werden, daß sie mit Neostibosan angesetzt worden ist.

ad 2: Die Frage der elektiven Ansprechbarkeit der Antimonsalzlösungen auf K.A. müssen wir nach folgenden zwei Gesichtspunkten betrachten:

1. mit welcher Sicherheit gibt das Reagenz einen positiven Ausfall mit K.A.-Serum?
2. mit welcher Sicherheit gibt das Reagenz einen negativen Ausfall bei sicher nicht vorhandener K.A.?

In der Literatur finden wir bei den verschiedenen Autoren, die verschiedene Antimonsalze verwenden, ziemlich unterschiedliche Resultate. Während z. B. bei Battacharyja und Bose positive Ergebnisse auf Verwendung von Ureastibamin nur bei K.A. auftreten, berichtet Napier, daß er mit dem gleichen Salz nicht in allen Fällen sicher vorhandener K.A. eine positive Reaktion bekam und daß diese auch manchmal positiv ausfiel, wenn sicher keine K.A. vorhanden war. Er veröffentlichte 200 Fälle von K.A., von denen nur 75% eine positive Reaktion gaben.

Interessant sind in diesem Zusammenhang die Angaben von Shortt: Bei 476 mit dem gleichen Salz angestellten positiven Proben fand sich nur in 81,3% eine einwandfreie K.A. Von weiteren 144 Proben mit positivem Ausfall waren 65 (45%) fehlerhaft.

Vassiliou Phinos machte Versuche mit Neostibosan: Bei 25 Fällen von Leishmaniosis fand er in 20 Fällen eine positive Reaktion. Weiter fand er bei:

78 Fällen von Leishmaniosen	71 (Pos.)	7 (neg.)
82 Fällen von Leishmaniosen	74 (Pos.)	8 (neg.)
6 Fällen von K.A.-Verdacht	6 (Pos.)	0 (neg.)

Es ergibt sich also bei Zusammenstellung der Literaturangaben, daß von den verwendeten Reagenzien keineswegs alle gleich gute Resultate ergeben, wobei Neostibosan am sichersten und in höchstem Prozentsatz auf K.A. anspricht.

Wir müssen somit zusammenfassend feststellen, daß die beiden Forderungen einer einwandfreien positiven Reaktion am besten von Neostibosan erfüllt werden, wenn es in 4%iger Lösung angewendet wird.

Wir haben soeben den Reaktionserfolg bei vorhandener K.A. betrachtet. Erheben wir nunmehr die Frage, mit welcher Sicherheit die Salzlösungen bei anderen Krankheiten und sicher fehlender K.A. einen negativen Ausfall liefern! Wir wenden uns damit der negativen Chopraprobe zu. Auf die Wichtigkeit dieser Frage ist bereits von verschiedenen Autoren hingewiesen

worden. So vergleicht z. B. Shortt nebeneinander 144 positive Chopraproben, von denen 65 (= 45%) fehlerhaft waren, mit 314 negativen, von denen 8 (= 2,5%) fehlerhaft waren. Daraus schließt er mit Recht, daß die negativ ausfallende Probe zuverlässiger sei, als die positive und damit ein wertvolleres diagnostisches Hilfsmittel darstelle. Allerdings sind diese Reaktionen mit Ureastibamin angestellt. Wie wir später sehen werden, zeigt dieses Salz eine gewisse Verwandtschaft mit Neostibosan, so daß wir hier die Reaktionen von Shortt nicht zu bezweifeln brauchen.

Von Phinos sind unlängst Arbeiten veröffentlicht worden, wo ausschließlich Neostibosan in 4%iger Lösung verwendet worden ist. In einer Serie von 42 Reaktionen fanden sich sieben positive Resultate ohne Fehler und 35 negative Resultate, ebenfalls ohne Fehler. In einer weiteren Serie von 545 Fällen fanden sich unter:

168 positiven Resultaten 17 Fehler = 10%
unter 377 negativen Resultaten 15 Fehler = 4%

Bei dieser größeren Versuchsreihe fällt schon sehr deutlich das Vorwiegen der richtigen negativen Resultate gegen die niedrigere Prozentzahl der richtigen positiven Resultate auf.

In einer weiteren Serie von 147 Reaktionen fanden sich unter:

22 positiven Reaktionen 22 Fehler = 100%

dagegen unter

296 negativen Reaktionen 0 Fehler = 0%.

Da in diesem Fall Seren von verschiedenen Krankheiten unter Ausschluß von K.A. verwendet wurden, sind naturgemäß alle positiven Reaktionen falsch und alle negativen Resultate richtig. Daher kommen die etwas frappierenden Prozentzahlen. Mag dieser Vergleich auch hinken, so zeigt die Gegenüberstellung doch recht deutlich, wie viel zuverlässiger und damit wichtiger die negative Chopraprobe ist.

Zu dieser ganzen Frage ist noch verschiedenes zu entnehmen aus Untersuchungen, die von O. Fischer (Tropengenesungsheim Tübingen) im Jahre 1929/30 in Deutsch-Ostafrika gemacht worden sind und mir zur Verwertung für diese Arbeit überlassen wurden. O. Fischer setzte seine Chopraprobe stets mit vier verschiedenen Antimonsalzlösungen an, so daß wir hier deutlich vor Augen geführt bekommen, wie sehr die Wahl des Antimonsalzes das Resultat der Untersuchung beeinflussen kann. Es wurden fast durchweg Lösungen von Stiburea, Ureastibamin, Aminostiburea und

Neostibosan verwendet und zwar in verschiedenen Konzentrationen. Dann wurde der Ausfall der Reaktion über längere Zeit hin beobachtet und notiert. Ich möchte hier zunächst nur die Resultate betrachten, die sich bei Verwendung 4%iger Lösungen ergaben, und zwar sofort nach Ansetzen der Reaktion. Die Seren stammen von Gesunden und Kranken unter völligem Ausschluß von K.A. Wir kommen zu folgendem Ergebnis:

Stiburea	17	pos.	(17	Fehler)	56	neg.	(0 Fehler)
Aminostiburea	11	„	(11	„)	62	„	(0 „)
Ureastibamin	5	„	(5	„)	68	„	(0 „)
Neostibosan	4	„	(4	„)	69	„	(0 „)

Von allen 73 Reaktionen ergab also:

Neostibosan	5% Fehler
Ureastibamin	7% Fehler
Aminostiburea	15% Fehler
Stiburea	23% Fehler.

Leider stand O. Fischer in Afrika niemals K.A.-Serum zur Verfügung, so daß wir hier keine Vergleiche mit richtig ausgefallen positiven Reaktionen anstellen können. Auffallend ist jedoch, daß bei Verwendung von 4%igen Neostibosanlösungen die negativen Resultate äußerst zuverlässig sind. Ich muß außerdem noch zu den als „positiv" bezeichneten Resultaten bemerken, daß ich nur diejenigen so gewertet habe, bei denen sofort oder nach wenigen Minuten eine s t a r k e Trübung aufgetreten ist. Es findet sich jedoch in O. Fischers Notizen wiederholt der Hinweis, daß auch bei stärksten Trübungen der Niederschlag niemals f l o c k i g ist, und daß, auch wenn ein starker Bodensatz entstanden ist, sich dieser leicht aufschütteln läßt zu einer gleichmäßigen Trübung. Also sind, streng genommen, die Forderungen Napiers für eine einwandfreie positive Reaktion n i c h t g a n z erfüllt. Ziehen wir diese Tatsache aber in Betracht, dann sinkt die Zahl der „falschen" positiven Ergebnisse noch weiter, d. h. die Reaktionen sind bei Verwendung von Neostibosan beinahe zu 100% negativ ausgefallen.

Ich habe selbst eine Reihe von Versuchen angestellt mit dem Serum von beliebigen Kranken mit Ausnahme von K.A. und bin zu folgenden Resultaten gekommen:

Krankheit	Fälle	positiv	negativ
Tuberkulose	18	—	18
Lupus vulgaris	6	—	6
Lupus erythemat.	2	—	2
Gonorrhöe	33	1	32
Lues	28	1	27
Bilharzia	2	—	2
Diphtherie	5	—	5
Scharlach	3	—	3
Masern	1	—	1
Psoriasis	10	1	9
Ekzem	12	1	11
Erysipel	2	—	2
ulcus cruris varicosum	6	2	4
Acne vulgaris	3	—	3
Pyodermie	10	2	8
Pediculi	1	1 (?)	—
Paratyphus	1	—	1
	143	9 (6,3%)	134

Unter 143 angestellten Versuchen waren 9 positive Resultate (6,3%).

Ich muß hervorheben, daß auch hier bei den als „positiv" bezeichneten Reaktionen wohl eine starke Trübung, aber kein flockiger Niederschlag aufgetreten ist, so daß streng genommen alle Reaktionen negativ waren. Praktisch ist also unter 143 Fällen kein Fehler aufgetreten!

Das wäre wieder eine Bestätigung zu dem Gedanken, der erstmalig von Shortt vertreten wurde, daß die negative Chopraprobe größere Bedeutung habe als die positive, da sie zuverlässiger sei. (Ind. Med. Res. 1930, Vol. 17, Nr. 3, p. 907—911.) Damit rückt natürlich die negative Chopraprobe in den Vordergrund des Interesses. Es scheint mir daher nicht unwichtig, dieselbe einmal genauer zu betrachten und sie scharf von der positiven zu trennen, besonders in den Grenzfällen.

Die negative Chopraprobe.

Zu dieser Untersuchung, die den Hauptteil der vorliegenden Abhandlung darstellt, steht mir das reichhaltige Material zur Verfügung, das von O. Fischer in Deutsch-Ostafrika gesammelt worden

ist. Besonderen Wert haben die Aufzeichnungen vor allen Dingen deshalb, weil erstens der Ausfall der Reaktionen äußerst genau in allen Abstufungen abgelesen wurde, und zwar über längere Zeit, und dann, weil die Resultate mit pünktlicher Genauigkeit für jeden einzelnen Fall aufgezeichnet worden sind. Es handelt sich um die gleichen Reaktionen, von denen ich bereits oben einen Teil verwendet habe. Sie wurden, wie erwähnt, gleichzeitig mit vier verschiedenen Antimonsalzen angesetzt (Stiburea, Ureastibamin, Aminostiburea und Neostibosan) in Konzentrationen von 4%, 1%, ½% und ¼%. Die Ablesung geschah sofort, nach ½ Stde., 1 Stde., 2 Stdn., dann in größeren Abständen bis 24 und 48 Stdn. nach Ansetzen der Reaktion; in einigen Fällen auch noch nach 60 Stdn. Die Form der Niederschläge wurde in folgende 5 Abstufungen eingeteilt:

1. Opak (op)	Ganz geringe Trübung, nur gegen dunklen Hintergrund im Vergleich zur Stammlösung erkennbar.
2. Spur (sp)	Deutliche Trübung, die bereits ohne Vergleich mit der Stammlösung gegen dunklen Hintergrund erkennbar.
3. Trüb (tr.)	Deutliche, ohne weiteres auffallende, gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.
4. stark trüb (st. tr.)	Erhebliche Trübung, die später zur Bildung eines nicht sehr großen Bodensatzes am Grund des Röhrchens geführt hat.
5. sehr st. tr.	Bildung eines starken Niederschlages, der beim Absetzen ¼—⅛ des Röhrchens ausfüllt.

Auf diese fünf Abstufungen hin wurden die Reaktionen genauestens beobachtet und die Resultate sogleich in Tabellen eingetragen. Wenn die Seren nicht sofort nach Gewinnung verarbeitet werden konnten, ist die Art und Dauer der Aufbewahrung jeweils angegeben. Man findet gelegentlich einen abweichenden Ausfall, der auf das Alter der Seren zurückgeführt werden kann. Die Untersuchungen O. Fischers erstrecken sich über einen Zeitraum von zwei Jahren, indem immer kleinere Gruppen untersucht wurden, die ich nun, nach Krankheitsgruppen geordnet, einer besonderen Betrachtung unterziehen will.

Zunächst

I. Vier Seren beliebiger Krankheiten:

Bei Verwendung von S t i b u r e a (4%) tritt sofort einmal Sp.; zweimal Op. und einmal O auf. In jedem Fall verdichtet sich der Niederschlag nach 12 Stdn. noch mehr. Je stärker die Salzlösung verdünnt ist, desto stärker treten die Niederschläge auf, so daß bei ¼% in zwei Fällen nach 12 Stdn. bereits stark trüb vorhanden ist.

Mit Ureastibamin bleiben zwei Seren völlig klar, die beiden anderen zeigen nur Sp. Auch hier Zunahme der Niederschläge entsprechend der Verdünnung, so daß bei ¼% nach 12 Stdn. beträchtliche Tr. vorhanden ist.

Bei Aminostiburea war anfangs überall negativer Ausfall, aber allmählich traten zunehmende Niederschläge auf, bei starken Verdünnungen bis zu st. tr.

Mit Neostibosan blieben alle Reaktionen neg., lediglich in einem Fall war nach 12 Stdn. mit ¼% 1. Op. vorhanden.

Die starken Niederschläge sind hier nie flockig, sie zeigen vielmehr, auch bei erheblichem Bodensatz, eine gleichmäßige Trübung. Beim Kochen hellen sich alle etwas auf. Die Kontrolle der Salzlösung ist völlig klar, so daß eine auftretende Trübung nicht auf einen Fehler der Salzauflösung zurückzuführen ist.

II. Bei einer weiteren Serie von vier Seren beliebiger Krankheiten finden wir ähnliche Resultate. Es sind hier nur 4%ige Lösungen verwendet und über 24 Stunden beobachtet worden.

Zunächst sind sämtliche Lösungen klar, mit Ausnahme der mit Ureastibamin angesetzten, die durchweg Sp. angeben. Allerdings ist hier zu beachten, daß die Stammlösung des Salzes auch Sp. anzeigt! Es liegt demnach nur ein Fehler der Salzlösung vor. Bei Beobachtung über 24 Stdn. bleiben alle Lösungen klar, mit Ausnahme eines Falles von Stiburea, wo nach 2 Stdn. eine leichte Op. auftritt, die dauernd bestehen bleibt. Ebenso tritt in 3, mit Aminostiburea angesetzten Fällen, eine 1. Op. auf, die sich nicht mehr verändert. Mit Neostibosan sind sämtliche Lösungen klar mit Ausnahme von einer, die nach 20 Stdn. 1. Op. zeigt.

Die geringen Trübungen setzen sich natürlich nicht ab und sind auch nicht flockig, sondern fein-dispers. Beim Kochen lösen sie sich alle sofort auf.

III. Es folgen neun Seren von Bilharzia-Kranken (nur Blasenbilharzia; Schistosomum haematobium). Hier ging O. Fischer so vor, daß er zwei verschiedene Methoden anwandte. Die ersten vier Seren sind so angesetzt, daß 2,0 Antimonlösung eingefüllt und dann 0,1 Serum zugegeben und umgeschüttelt wurde. Die fünf anderen Seren wurden mit NaCl-Lösung verdünnt im Verhältnis 0,1 zu 1,0 und dann wurde erst die Antimonlösung zugegeben. Aber bei der Verdünnung der Seren mit Kochsalzlösung traten schon verschiedene Trübungen auf, die das Resultat des späteren Versuches entwerteten! Tatsächlich ist auch nachher beim Ablesen der Resultate auffällig, daß gerade die nach Methode 2 verarbeiteten Seren fast durchweg Trübungen stärkeren Grades aufweisen, während das Ergebnis nach Methode I wesentlich anders ist. Das spricht entschieden gegen Methode II. Ich will deshalb die Ergebnisse der fünf letzten Reaktionen nicht beachten.

Bei den nach Methode I ausgeführten Reaktionen fällt auf, daß zunächst alle stärkeren Konzentrationen klar bleiben mit Ausnahme von Aminostiburea, wo

Sp.-Op. zu erkennen ist. Auch stärkere Verdünnungen geben selten eine geringe Tr., die als Op. bezeichnet ist. Bei Neostibosan sind sämtliche Lösungen in allen Verdünnungsgraden völlig klar, auch über längere Zeit hin. Nach 24 Stdn. haben sich die Ergebnisse nicht verändert. Beim Kochen klären sich vorhandene Trübungen völlig auf.

IV. Interessant sind die Ergebnisse, die mit vier Seren erzielt wurden, von denen drei gleichzeitig einen 3fach pos. Wassermann aufwiesen.

Es fällt auf, daß alle Seren, mit oder ohne pos. Wassermann, bei der starken Verdünnung von Stiburea bereits Trübungen bis zum Grade von Tr. angeben. Bei steigenden Verdünnungen wird die Trübung immer stärker. Nach 1 Stde. geben bereits alle Lösungen st. tr. an.

Ureastibamin und vor allem Aminostiburea geben ähnliche Resultate, die nur um wenige Grade hinter denen mit Stiburea zurückbleiben. Auch hier finden wir bei den starken Verdünnungen nach 1 Stde. fast durchweg stark tr.

Mit Neostibosan angesetzte Reaktionen hingegen sind völlig klar mit Ausnahme der $\frac{1}{4}$%igen Lösungen, die nach 1 Stde. schwache Trübungen bis zum Grade von 1. Op. bis Sp. anzeigen.

Man möchte fast glauben, daß hier die 3fach pos. Wa. R. einen Einfluß auf den Ausfall der Reaktionen habe. Aber bei genauem Zusehen findet man, daß das Serum mit negativer Wa. R. sich gar nicht anders verhält. Auch ist zu beachten, daß die als st. tr. bezeichneten Niederschläge nie flockig sind. Im Ernstfall gibt bei einer positiven Wa. R. die Anwendung von 4%igen Neostibosanlösungen den Ausschlag in der Beurteilung einer Reaktion, da dieses Salz augenscheinlich auf eine vorhandene Lues nicht reagiert, wie möglicherweise die anderen Präparate. Diese Salze haben sich wenigstens in den vorliegenden drei Fällen als unzuverlässig erwiesen.

V. Anschließend möchte ich eine Versuchsreihe von acht Seren von Flecken- und Knotenlepra anführen. Zu beachten ist, daß sämtliche Fälle unter Hydnocreolbehandlung standen mit Ausnahme eines einzigen. Verwendet wurde von den vier Salzen jeweils nur eine 4%ige und eine $\frac{1}{4}$%ige Lösung. Die Resultate wurden sofort, nach drei und nach 20 Stdn. abgelesen. Auffallenderweise sind hier die Resultate bei beiden extremen Verdünnungen genau gleich, und zwar sofort nach Ansetzen der Reaktion als auch bei den späteren Ablesungen.

Mit Stiburea sind zunächst vier Lösungen klar, während bei den vier übrigen zweimal Op. und zweimal Tr. auftritt.

Mit Ureastibamin fünfmal klar, einmal Op.; einmal Sp. und einmal tr. Ebenso bei Aminostiburea.

Bei Neostibosan sind, wie gewöhnlich, alle Lösungen völlig klar, nur bei einer ¼%igen Verdünnung tritt leichte Op. auf.

Auffallend ist bei dieser Versuchsreihe, daß sich die Niederschläge im Laufe von 20 Stdn. nicht verdichten, sondern daß sich das anfängliche Aussehen der Lösung hält. Nur bei zwei Seren mit stärkeren Verdünnungen von Stiburea und Aminostiburea finden wir nach 20 Stdn. eine st. Tr. Es ist mir bereits mehrfach aufgefallen, daß Stiburea und Aminostiburea ähnlich reagieren, was bei ihrer chemischen Verwandtschaft ja verständlich ist. Die Resultate unterscheiden sich oft in gleicher Weise von denen der beiden andern Reagenzien. Ureastibamin und Neostibosan; sie sind weniger zuverlässig als die beiden letzteren, die ihrerseits auch eine gewisse Ähnlichkeit zeigen, wenn auch Ureastibamin in seiner Zuverlässigkeit weit hinter Neostibosan zurückbleibt.

Man könnte bei der zuletzt angeführten Versuchsreihe vielleicht den Verdacht äußern, daß die starken Niederschläge auf die Hydnocreolbehandlung zurückzuführen sind. Dafür spricht, daß das Serum der unbehandelten Patienten mit allen Versuchen völlig klar blieb. Das scheint mir doch ein Zufallsbefund zu sein, denn mehrere Seren von behandelten Patienten gaben auch negative Resultate. Ich möchte den Einfluß von Hydnocreol auf die Chopraprobe daher doch ablehnen.

VI. Im folgenden möchte ich vier weitere Fälle von Knoten- und Fleckenlepra erwähnen, bei denen die Untersuchung etwas anders ausgefallen ist. Es wurden hier 4%ige, 1%ige und ¼%ige Salzlösungen verwendet und sofort, nach 2 und nach 24 Stdn. abgelesen. Die Resultate sind sehr verschieden ausgefallen.

Stiburea und Aminostiburea zeigen auch hier eine gewisse Verwandtschaft, indem die gleichen Seren fast gleiche Resultate aufweisen. Nummer 1 und 2 sind zunächst bei den 4%igen Lösungen klar, werden aber bei zunehmender Verdünnung und bei späterer Ablesung tr., gehen aber nie über Sp. hinaus. Nummer 3 und 4 geben sofort st. tr. Bei Stiburea sind die Niederschläge immer 1° stärker als bei Aminostiburea. Auffälligerweise gehen die Trübungen während der Beobachtung zurück, verschwinden fast ganz, um sich nach längerer Zeit schließlich wieder zu verdichten.

Ureastibamin und Neostibosan unterscheiden sich stark voneinander, insofern, als beim 1. Salz sämtliche Lösungen von Anfang an eine dauernd gleichbleibende Tr. zeigen (Op.-Sp.), während bei Neostibosan alle Lösungen völlig klar sind und bleiben.

In dieser Versuchsreihe ist zweierlei doch bemerkenswert:
1. ist auffällig, daß bei Seren der gleichen Krankheit so starke

Unterschiede im Ausfall der Reaktion auftreten. Das läßt doch vermuten, daß die Krankheit an sich gar nicht die Hauptrolle spielt, sondern daß irgendwelche anderen Faktoren, vielleicht im Serum selbst begründete, vielleicht aber auch Faktoren exogener Art, mit hereinspielen. Jedenfalls kann es vorkommen, daß die gleiche Krankheit ganz verschiedene Resultate gibt, ausgenommen — bei Verwendung von Neostibosan! Es ist mir wesentlich, auf diese bereits mehrfach erwähnte Tatsache immer wieder hinzuweisen. Sie ist eben wichtig und bei vergleichenden Untersuchungen mit andern Antimonsalzlösungen ins Auge springend. Keines der anderen Reagenzien ist so zuverlässig wie Neostibosan, weder in der positiven noch in der negativen Reaktion!

Ein zweites ist in der Versuchsreihe noch bemerkenswert, was ich bisher noch nicht gefunden habe. Weiter oben habe ich darauf hingewiesen, daß vorhandene Niederschläge sich im Laufe der Zeit verstärken können, wenn sie nicht gleichbleiben. Hier finden wir aber bei mehreren Reaktionen, daß vorhandene Niederschläge im Laufe von Stunden schwächer werden, völlig verschwinden und schließlich später wieder auftreten können. Vielleicht hängt das mit Zersetzungsvorgängen im Serum zusammen, deren Produkt den Niederschlag derartig reversibel macht. Jedenfalls ist auch hier wichtig, daß Neostibosan auf diese Vorgänge nicht reagiert!

VIII. Interessant ist die nun folgende Reihe von neun Seren, die von Schlafkranken stammen. Sechs davon haben einen positiven Wa. R.

Mit Stiburea und seinem Verwandten Aminostiburea ergeben sich bei sofortigen Ablesungen in allen Lösungen Niederschläge von Op. bis Tr. Diese verdichten sich in vier Fällen nach 1 Stde. zu Tr., die als st. tr. und in zehn Fällen als sehr st. tr. bezeichnet werden. Auffallenderweise sind es Seren, die einen pos. Wa. R. haben, während die Seren mit neg. Wa. R. sich an der Grenze von Op. bis Sp. halten.

Ganz anders sind die Resultate bei Ureastibamin und Neostibosan. Die 4%igen Lösungen sind und bleiben dauernd klar, dagegen kommen bei beiden Reagenzien in den stärkeren Verdünnungen (1% bis ¼%) Tr. vor, von Op. bis Tr. Zwei Seren geben sogar mit beiden Reagenzien nach 24 Stdn. Tr., die als st. tr. bezeichnet werden.

Die zahlreichen starken Niederschläge, die natürlich auch hier nicht flockig sind, sind im Zusammenhang mit der pos. Wa. R. auffallend. Ich möchte hier darauf hinweisen, daß bei meinen eigenen Untersuchungen (s. Tabelle auf S. 8) unter 28 Fällen von Lues nur einmal eine positive Reaktion mit Neostibosan auftrat! Ich möchte daher nicht annehmen, daß die Wa. R. hier eine so aus-

schlaggebende Rolle spielt, wenn ihr Einfluß auch nicht ganz von der Hand zu weisen ist. Jedenfalls darf nicht übersehen werden, daß es sich um lauter Seren von Schlafkrankheit handelt, die bisher noch nicht untersucht worden ist. Es ist wohl möglich, daß diese Krankheit einen Einfluß auf den Ausfall der Chopraprobe hat, möglicherweise spielt auch die Kombination von Schlafkrankheit und Lues eine Rolle. Das ist jedoch nicht leicht zu entscheiden. Diese Frage wird aber praktisch unwichtig durch die Tatsache, daß Neostibosan in 4%iger Lösung einen sicher negativen Ausfall der Reaktion ergibt.

VIII. In diesen Zusammenhang gehört noch eine weitere Versuchsreihe von vier Seren, von denen zwei einen pos. Wa. R. aufweisen (2—3fach). Das Resultat ist hier ähnlich.

Stiburea und Aminostiburea geben in allen Verdünnungen sofort Trübungen von Sp.—tr., die sich nach 4 Stdn. bis 24 Stdn. mit nur einer Ausnahme verdichten bis st. tr. u. s. st. tr.

Ureastibamin und Neostibosan geben in 4%iger Lösung zunächst keinen Niederschlag, der auch bei späteren Ablesungen bei Neostibosan nicht auftritt. Bei Ureastibamin finden wir nach 24 Stdn. in zwei Fällen Sp. In den starken Verdünnungen (1% bis ¼%) zeigt Ureastibamin Trübungen bis tr., die sich nicht mehr verändern.

Wichtig ist in dieser Reihe, daß die „starken Niederschläge" ganz unabhängig von der pos. oder neg. Wa. R. auftreten! Ureastibamin und vor allem Neostibosan geben auch hier, wenigstens in 4%iger Lösung, einen ausgesprochen negativen Ausfall der Reaktion!

IX. Ich möchte hier noch eine kleine Versuchsreihe erwähnen, bei der mehrere sehr starke Niederschläge auftreten. Es handelt sich um Seren von Frambösie, Malaria (ohne Chinin) und Malaria mit Chinin im But. Als Reagenz sind Stibenyl, Stibosan und Neostibosan in 4%iger bis ¼%iger Lösung verwendet worden. Ablesung erfolgte nach 2 Stdn. bis 6 und 22 Stdn. nach dem Ansetzen.

Nach 2 Stdn. weisen Stibenyl und Stibosan in der starken Konzentration, sowie in den schwächsten Konzentrationen Niederschläge bis zum Grade von tr. auf, während die mittleren Konzentrationen klar bleiben. Bei Neostibosan bleibt die 4%ige Lösung zunächst klar, aber mit zunehmender Verdünnung treten immer stärkere Niederschläge bis tr. auf.

Es ist besonders darauf hinzuweisen, daß die Niederschläge ganz unabhängig vom Chiningehalt der Seren auftreten.

Nach 16 und 22 Stdn. sind die Niederschläge genau der obigen Verteilung entsprechend. Es kommt jetzt eine ganze Reihe von starken Trübungen vor; selbst bei Neostibosan finden wir unter 40 Ablesungen fünfzehnmal st. tr. Auch jetzt fällt auf, daß die Niederschläge nicht in Zusammenhang mit dem Chiningehalt

der Seren auftreten. Z. B. haben wir bei einem chininhaltigen Serum lauter ganz schw. Tr. von O bis Op. und bei einem anderen chininhaltigen Malariaserum lauter st. Trübungen.

Ich erwähne das deshalb, weil Labernadie und Lafitte angegeben haben, daß Chinin mit Antimonsalzlösungen einen sehr starken Niederschlag gibt; auch V. Phinos machte Versuche mit Chinin und bekam nur bei 0,1%iger Lösung einen sofortigen starken Niederschlag, während bei 0,05%iger Lösung und bei noch stärkeren Verdünnungen bereits keine Trübungen mehr auftraten.

Es ist anzunehmen, daß Chinin bei den üblichen therapeutischen Gaben niemals in solchen Konzentrationen im Blut vorhanden ist, daß es zu einer Ablenkung der Chopraprobe führen könnte! Phinos hat 25 Fälle angeführt, wo durch intramuskuläre Chiningaben nach 6 Std. noch pos. Chopraproben mit 4%igem Neostibosan auftraten, während nach 10 Std. keine Reaktion mehr zu erzielen war. War aber das Chinin per os gegeben worden, so trat überhaupt keine positive Reaktion auf!

Ich darf in diesem Zusammenhang einen kleinen Selbstversuch erwähnen, den ich mit Chinin angestellt habe. Ich injizierte mir selbst 1,0 Solvochin intravenös und nahm mit einer neuen Spritze wieder Blut ab, und zwar nach 5 Minuten, 10 Minuten, ½ Std., 1 Std. und 24 Std. Ich bekam wohl sofort einen starken „Chininrausch", aber keine Blutprobe ergab bei der nachfolgenden Chopraprobe mit derselben einen positiven Niederschlag. Ich möchte demnach kaum annehmen, daß durch therapeutische Chininmengen im Blut die Chopraprobe merklich beeinflußt wird. Phinos schlägt vor, wenn man sehr skeptisch sein will, soll man nach einer Chiningabe 24 Std. warten und dann erst die Chopraprobe machen.

In den oben erwähnten Reaktionen von O. Fischer spielt jedenfalls Chinin keine wesentliche Rolle. Die Kontrollösungen waren übrigens mit Ausnahme von Neostibosan alle getrübt.

X. Zum Schluß muß noch kurz eine Versuchsreihe erwähnt werden, die völlig aus dem Rahmen fällt. Es handelt sich um sieben Seren von Frambösie, Madurafuß und Osteomyelitis. NB. Alle Seren geben einen pos. Wa. R.

Auffallend ist, daß sämtliche Reagenzien in allen Verdünnungen Trübungen geben, die in den meisten Fällen stark ausgefallen sind, nur Ureastibamin macht eine Ausnahme insofern, als auch klare Lösungen vorhanden sind bzw. die Trübungen nur bis zum Grade von tr. gehen.

Neostibosan fällt völlig aus der Rolle! Es hat nämlich in den meisten Fällen die stärksten Niederschläge. Die Trübungen sind allerdings, auch wenn sie sehr stark sind, niemals flockig. Auch in dieser Versuchsreihe finden wir das Absonderliche, daß vorhandene Niederschläge schwächer werden können und später wieder zunehmen; selbst bei einigen Reaktionen mit Neostibosan kommt das vor. (Vgl. S. 12, Nr. VI.)

Ob hier die positive Wa. R. doch eine Rolle spielt? Ich möchte es ablehnen. Daß Neostibosan hier so vollständig versagt, weckt doch den Verdacht, daß irgendein technischer Fehler im Ansetzen der Reaktion vorliegt. Wenn wir lauter Seren von ein und derselben Krankheit vor uns hätten, dann wäre das Resultat dieser Reihe wohl ernster zu nehmen, aber es handelt sich ja um ganz verschiedene Krankheiten. Ich möchte daher annehmen, daß diese Versuchsreihe unbrauchbar ist.

Was ist nun aus den Untersuchungen Grundlegendes zu entnehmen?

Zunächst einmal ist ganz eindeutig erwiesen, daß die Wahl des Antimonsalzes von entscheidendem Einfluß auf die Chopraprobe ist. Die sichersten positiven und negativen Resultate bekommt man mit Neostibosan. Alle anderen Salze sind weit weniger zuverlässig, einesteils weil sie in wässeriger Lösung manchmal Trübungen ergeben und anderenteils weil sie weniger elektiv auf K.A. reagieren. Das gilt vor allem für Stiburea und Aminostiburea, während Ureastibamin dem Neostibosan nahesteht.

Weiterhin sehen wir, daß die negative Chopraprobe sich keineswegs in einem Ausbleiben jeglicher Trübung darstellt. Während die positive Reaktion ganz eindeutig von Napier definiert worden ist, tritt uns die negative Probe in ganz verschiedenen Formen des Niederschlags entgegen. Sie kann sogar sehr starke Niederschläge enthalten, die denen der positiven Probe ganz nahe kommen und einen flüchtigen oder ungeübten Beobachter wohl täuschen und zur Annahme eines positiven Resultates veranlassen können. Nach O. Fischer teilen wir diese Arten des Niederschlages in fünf Stufen ein: Op. — Sp. — Tr. — st. Tr. und s. st. tr. Alle diese „Fischerschen Stufen" können uns bei der negativen Chopraprobe begegnen

und in den starken Formen zu Fehldiagnosen veranlassen, vor allem, wenn wir kein Neostibosan verwenden.

Wichtig ist außer der Wahl des Antimonsalzes aber auch die Konzentration der Salzlösung und der Zeitpunkt der Ablesung. Es zeigt sich nämlich, daß mit zunehmender Verdünnung der Lösung die falschen Niederschläge nicht etwa geringer werden, sondern im Gegenteil in der Regel an Dichtigkeit zunehmen! Am geringsten ist dieser Einfluß der Salzkonzentration wiederum bei Verwendung von Neostibosan. Den gleichen Einfluß hat der Zeitpunkt der Ablesung. Im Laufe der Zeit verdichtet sich nämlich ein vorhandener Niederschlag oder er tritt in anfangs klaren Lösungen überhaupt erst auf.

Es ist also wichtig, zur sicheren Diagnosestellung, daß man Neostibosan in starker Lösung (4%) anwendet und gleich abliest.

Besondere Vorsicht ist bei Vorhandensein einer Lues geboten! Eine pos. Wa. R. kann das Resultat der Untersuchung sehr gefährden, vor allem, wenn kein Neostibosan verwendet worden ist.

Interessant ist weiterhin, daß wir bei ein und derselben Krankheit gelegentlich ganz verschiedene Resultate bekommen können, wie z. B. die Leprafälle auf S. 12 zeigen. Das drängt einem die Vermutung auf, daß es gar nicht die Krankheit als solche ist, die eine Reaktion hervorruft, sondern daß gewisse Vorgänge innerhalb des Serums, die wir nicht genau kennen, einen Einfluß haben. Vermutlich sind es Verschiebungen in Euglobulin / Globulin-Verhältnis im Serum, Vorgänge, die speziell für K.A. genauer von Brachmachari und Sen untersucht worden sind. Daß irgendwelche Veränderungen im Serum vor sich gehen, sehen wir schon an der auffälligen Tatsache, die mir an den Reaktionen auf S. 12 erstmals aufgefallen ist, daß vorhandene Trübungen im Laufe von Stunden gegen die Regel schwächer werden und völlig verschwinden können und schließlich später wieder auftreten. Das kommt aber nur vor, wenn kein Neostibosan verwendet worden ist. Arbeitet man aber mit dem genannten Salz, so ist man sicher vor dieser Fehlerquelle.

Der Vollständigkeit halber möchte ich noch einmal auf die von Labernadie und Laffitte erstmals genannte Gefahr, daß das Vorhandensein von Chinin im Serum die Chopraprobe ablenken kann, hinweisen. Wenn auch Phinos bei intramuskulärer Chinindarreichung solche Beziehungen gesehen hat, so kann ich doch dagegenstellen, daß selbst bei intravenöser Chininzufuhr eine positive Chopraprobe mit dem Serum nicht zu erzielen war.

Wie kann nun der ungeübte Untersucher unterscheiden, ob bei einem starken Niederschlag eine positive oder negative Reaktion vorliegt? Nehmen wir an, er hat Neostibosan in 4%iger Lösung verwendet und sofort abgelesen. Die Antwort gibt die Definition der positiven Chopraprobe von Napier, welche sagt, daß bei K.A. sofort ein „flockiger" Niederschlag auftritt. Wie aus der vorliegenden Zusammenstellung zu entnehmen ist, sind dagegen die Trübungen, die bei Verwendung von Seren anderer Krankheiten auftreten, auch wenn sie sehr stark sind, stets gleichmäßig und niemals flockig! Die Niederschläge setzen sich nach einiger Zeit ab und füllen den Boden des Glases zu $^1/_8$—$^1/_4$. Im Zweifelsfall ist also die Art des Niederschlages, ob flockig oder gleichmäßig, d. h. grob-dispers oder fein-dispers, das entscheidende Kriterium.

Zusammenfassung.

Vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Chopraprobe, einer Reaktion zum Nachweis der Kala-Azar-Krankheit. Die Durchsicht und Zusammenstellung der vorhandenen Literatur ergibt, daß die negativ ausfallende Chopraprobe prozentual sicherer ist als die positiv ausfallende. Aus diesem Grunde werden die Formen des negativen Ausfalls an einem größeren Material studiert und zusammengefaßt. Dabei zeigt sich, daß auch bei der negativen Probe außerordentlich starke Niederschläge auftreten, die eine positive Probe vortäuschen können, von dieser aber genau unterschieden werden können.

Zum Schluß möchte ich nicht versäumen, Herrn Professor Fischer meinen Dank auszusprechen für die freundliche Überlassung der Arbeit und des wertvollen Materials, das er in Afrika gesammelt hat, sowie für die gütige Mithilfe bei der Zusammenstellung der Arbeit.

Literaturnachweis.

1. Battacharyya: Ind. med. Gazette (1928) Vol. 63, Nr. III.
2. Bose, Dastidar & Bagchi: Ind. med. Gaz. (1928) Vol. 63, Nr. VII.
3. Chopra u. Chanduri: Ind. med. Resume (1928) Vol. 15, Nr. IV.
4. Chopra, Gupta u. Mullick: Ind. med. Gaz. (1928) Vol. 63, Nr. V.
5. Napier: Ind. med. Gaz. (1928) Vol. 63, Nr. XII.
6. Lloyd u. Paul: Ind. med. Res. (1928) Vol. 16, Nr. I u. II.
7. Labernadie u. Laffitte: Trop. Dis. Bull.
8. Boyd u. Roy: Ind. med. Gaz. Vol. 64, Nr. II (1930).
9. Chopra u. Napier: Ind. med. Gaz. (1929) Vol. 64, Nr. XII. und Trop. Dis. Bull. Vol. 27, Nr. VIII.
10. Napier: Ind. fl. med. Res. (1930) Vol. 17, Nr. IV.
11. Shortt: Ind. fl. med. Res. (1930) Vol. 17, Nr. III.
12. Chopra: Ind. med. Gaz. (1930) Vol. 65, Nr. IV.
13. Vassiliou Phinos: Archiv f. Sch. u. Tr. Hyg. Bd. 36, Heft 10.
14. Vassiliou Phinos: Archiv f. Sch. u. Tr. Hyg. Bd. 36, Heft 11.

Lebenslauf.

Ich bin am 17. 8. 08 in Finschhafen-Neuguinea geboren. Nach neunjährigem Besuch des Realgymnasiums in Greiz-Thüringen habe ich 1928 die Reifeprüfung absolviert.

Nachdem ich fünf Semester Medizin in Tübingen studiert habe, habe ich an der gleichen Universität das Physikum absolviert und habe danach zwei klinische Semester in München, eins in Berlin und drei weitere in Tübingen gehört. Dort habe ich im Winter 1934 das Staatsexamen bestanden.

Alfred Stürzenhofecker.